LIMNOBIOS	La Plata	Agosto 1982	Vol. 2	Fasc. 5	Pág. 330-332	0325-7592 ISSN

USO DE PERFILES NUMERICOS PARA LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS DE AMBIENTES LACUSTRES *

MIGUEL A. DI SIERVI y ALDO A. MARIAZZI

SUMMARY: USE OF NUMERICAL PROFILES IN THE IDENTIFICATION OF GRAM NEGATIVE BACTERIA FROM LACUSTINE ENVIRONMENTS. —

Con frecuencia los estudios cualitativos de las bacterias heterotróficas en ambientes acuáticos lacustres constituyen sólo una parte de un estudio más amplio, en el cual las identificaciones pueden resultar útiles para evaluar variaciones estacionales o el predominio de ciertos grupos de bacterias y establecer las relaciones existentes con otros factores ecológicos.

Estas identificaciones, debido a la profusión de claves, algunas de ellas diferenciando las cepas a partir de la prueba de oxidasa (Arenas *et al.*, 1976), otras a partir de cepas móviles o no móviles (Shewan *et al.*, 1960), etc., hacen que si bien se puede llegar a una identificación correcta, se pierde demasiado tiempo, en especial cuando la colección de cepas es grande. Otro de los inconvenientes con los que se tropieza comúnmente es el de la diferencia de criterios con respecto a la utilidad o no de un determinado test y el peso que éste tendría para una identificación.

Nuestro objetivo es el obviar estos problemas y por sobre todas las cosas hacer más rápida y cómoda la tarea de identificación presuntiva de los géneros más comunes de bacilos gram negativos.

Basándonos en el trabajo de Griffiths & Lovitt (1980), que estudia la diversidad bacteriana por medio de perfiles numéricos, proponemos una forma de identificación que combina uno de los métodos usados en el sistema de identificación API (API Systems S.A., La Balme Les Grottes, 38390 Montalieu, Francia), con un número relativamente pequeño de tests de identificación, más comunes y discriminatorios.

Todos los trabajos consultados y nuestra propia experiencia nos indican que los géneros más comunes a encontrar en los ambientes lacustres son: *Flavobacterium, Cytophaga, Acinetobacter, Moraxella, Alcaligenes, Xantomonas, Aeromonas, Vibrio, Pseudomonas, Chromobacterium* y la familia *Enterobacteriaceae*. En base al manual Bergey (1974), Skinner & Lovelock (1979), Straskrabová (1974), Gavini & Leclerc (1975) y Mc Faddin (1980), llegamos a la conclusión de que los tests más indicados a utilizar son los que aparecen en la tabla I, a los cuales se les dio un

* Contribución Nº 195 del Instituto de Limnología, ILPLA (Museo de La Plata, CONICET).

valor numérico de 1, 2 y 4 de acuerdo a su posición.

Cada cepa, una vez realizada la coloración de Gram, debe ser sometida a los tests que se mencionan en la tabla II, los cuales en caso de positividad, se suman en forma vertical de acuerdo al valor numérico asignado a cada uno. Esto dará por resultado un número de tres dígitos, el cual se cotejará con la tabla II en la que aparecen los números correspondientes a cada género o familia. Por ejemplo: "bacteria móvil con flagelo polar": el primer dígito es 1; "oxidasa positiva": el segundo dígito es 2 y "oxidativa en Hugh y Leifson y reduce nitratos": el tercer dígito es 6. El número obtenido es 126, el cual en la tabla II corresponde al género *Pseudomonas*.

Algunos grupos arrojan resultados positivos o negativos indistintamente, con respecto a algún test y esto ha sido tenido en cuenta en las combinaciones numéricas correspondientes. En el caso de *Aeromonas* y *Vibrio* que comparten

TABLA I

CARACTERES UTILIZADOS PARA OBTENER LOS PERFILES NUMERICOS DE LOS BACILOS GRAM NEGATIVOS

1	Móvil Flagelo polar	Pigmento amarillo, rojo o marrón no fluorescente	Fermentativo en Hugh y Leifson (glucosa)
2	Pigmento violeta	oxidasa	Oxidativo en Hugh y Leifson (glucosa)
4	Móvil Flagelos peritricos	movimiento deslizante	Reducción de nitratos

TABLA II

IDENTIFICACION DE LOS DISTINTOS GRUPOS POR LOS PERFILES NUMERICOS

Nº		Nº		Fig.	
000	*Acinetobacter*	056	"	325	"
002	"	070	"	326	"
005	*Enterobacteriaceae*	071	"	405	*Enterobacteriaceae*
010	*Flavobacterium*	072	"	410	*Flavobacterium*
012	"	074	"	412	"
014	"	075	"	414	"
015	*Enterobacteriaceae*	076	"	415	*Enterobacteriaceae*
016	*Flavobacterium*	112	*Xantomonas*	416	*Flavobacterium*
020	*Moraxella*	120	*Pseudomonas*	420	*Alcaligenes*
024	"	122	"	422	"
025	*Aeromonas - Vibrio*	124	"	424	"
030	*Flavobacterium*	125	*Aeromonas - Vibrio*	426	"
032	"	126	*Pseudomonas*	430	*Flavobacterium*
034	"	130	"	432	"
035	*Aeromonas - Vibrio*	132	"	434	"
036	*Flavobacterium*	134	"	436	"
050	*Cytophaga*	135	*Aeromonas - Vibric*	605	*Chromobacterium*
051	"	136	*Pseudomonas*	606	"
052	"	305	*Chromobacterium*	625	"
054	"	306	"	626	"
055	"				

los mismos números, se puede optar entre una serie de tests adicionales cuyos resultados son:

	Aeromonas	Vibrio
Sensibilidad al 0/129	—	+
Arginina	+	—
Ornitina	—	+
Lisina	—	+

Teóricamente los números obtenidos deberían variar entre 000 (todos los tests negativos) y 676 (mayor número a alcanzar con resultados positivos). La tabla II tiene un total de 61 números, los cuales se han realizado con todas las variables posibles de los tests para cada género; los números que no se encuentran en dicha tabla no pertenecen a los grupos citados, al menos considerando la bibliografía por nosotros consultada.

BIBLIOGRAFIA

ARENAS, E.; L. D. LONDERO & M. A. BILLERBECK, 1976. Bacterias heterótrofas aerobias gram negativas del Lago San Roque: I - Su aislamiento en grupos. *Comunicación Nº 69, 1er. Congreso y IV Jornadas Argentinas de Microbiologia,* Buenos Aires.

BERGEY'S *Manual of Determinative Bacteriology,* 5ª ed., 1974. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.

GAVINI, F. & H. LECLERC, 1975. Étude de bacilles gram négatif pigmentés en jaune, isolés de l'eau. *Rev. Internat. Oceanogr. Méd.,* 37-38: 17-68.

GRIFFITHS, A. J. & R. LOVITT, 1980. Use of numerical profiles for studying bacterial diversity. *Microb. Ecol.,* 6: 35-43.

MC FADDIN, J., 1980. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica.* The Williams and Wilkins Company. Traducción de Editorial Médica Panamericana, 301 págs.

SHEWAN, J. M.; G. HOBBS & W. HOPGKISS, 1960. A determinative scheme for the identification of certain genera of Gram negative bacteria, with special reference to the *Pseudomonadaceae. J. Appl; Bacteriol.,* 23: 379-390.

SKINNER, F. A. & D. LOVELOCK, 1979. *Identification methods for microbiologists.* Soc. Appl. Bacteriol. Technical series Nº 4.

STRASKRABOVÁ, V., 1974. Seasonal occurrence of several groups of heterotrophic bacteria in two reservoirs. *Int. Revue. Ges Hydrobiol.,* 59, 1: 9-16.